

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Aspergillus spp.* EN
SUERO SANGUÍNEO DE AVES PSITÁCIDAS CAUTIVAS EN EL
CENTRO DE RESCATE Y CONSERVACIÓN DE ANIMALES
SILVESTRES (ARCAS) EN EL DEPARTAMENTO DE PETÉN
REPÚBLICA DE GUATEMALA, UTILIZANDO LA PRUEBA DE
INMUNODIFUSIÓN EN AGAR GEL**

ADRIANA MERCEDES POLANCO ZEA

GUATEMALA, OCTUBRE 2,003

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

**“DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Aspergillus spp.* EN SUERO
SANGUÍNEO DE AVES PSITÁCIDAS CAUTIVAS EN EL CENTRO DE
RESCATE Y CONSERVACIÓN DE ANIMALES SILVESTRES (ARCAS) EN EL
DEPARTAMENTO DE PETÉN REPÚBLICA DE GUATEMALA, UTILIZANDO
LA PRUEBA DE INMUNODIFUSIÓN EN AGAR GEL”**

TESIS

PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE
SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

ADRIANA MERCEDES POLANCO ZEA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, OCTUBRE 2,003

JUNTA DIRECTIVA
DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO	Dr. MARIO E. R. LLERENA Q.
SECRETARIO	Dra. BEATRIZ SANTIZO
VOCAL PRIMERO	Lic. CARLOS SAAVEDRA
VOCAL SEGUNDO	Dr. FREDY GONZÁLES
VOCAL TERCERO	Dr. EDGAR BAILEY
VOCAL CUARTO	Br. JUAN PABLO NÁJERA
VOCAL QUINTO	Br. LUZ FRANCISCA GARCÍA

ASESORES	Dra. LUCRECIA MOTTA
	Dra. VIRGINIA DE CORZO
	Dr. HÉCTOR FUENTES

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala presento a consideración a ustedes el trabajo de tesis titulado

“DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Aspergillus spp.* EN SUERO SANGUÍNEO DE AVES PSITÁCIDAS CAUTIVAS EN EL CENTRO DE RESCATE Y CONSERVACIÓN DE ANIMALES SILVESTRES (ARCAS) EN EL DEPARTAMENTO DE PETÉN REPÚBLICA DE GUATEMALA, UTILIZANDO LA PRUEBA DE INMUNODIFUSIÓN EN AGAR GEL”

Como requisito previo a optar el título de

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A MIS PADRES

MANUEL SALVADOR POLANCO RAMÍREZ
LUVIA MARBELLA ZEA DUARTE DE POLANCO

A MIS HERMANOS

LUZ ANDREA, MANUEL Y MARBELLA

A LA MEMORIA DE MIS ABUELOS

RIGOBERTO POLANCO, MERCEDES RAMÍREZ DE POLANCO, RUPERTO
ZEA Y LUZ AMERICA DUARTE

A MI NANA

PAULA PASAN

A

TULIO HERNÁNDEZ GAMARRO

A MIS AMIGOS

LULU, HEIDI, CLAUDIA, DINA, VALESKA, VIVI, MARLON, MAURICIO, ERICK,
ANA RUTH PAIZ†

AGRADECIMIENTO A:

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

AL LABORATORIO DE PATOLOGÍA AVIAR DE LA FMVZ

A MI FAMILIA

A MIS ASESORES: Dra. LUCRECIA MOTTA,
Dra. VIRGINIA DE CORZO
Dr. HÉCTOR FUENTES

AL PERSONAL DEL CENTRO DE RESCATE DE PETÉN

A TODAS LAS PERSONAS QUE DE UNA U OTRA MANERA ME APOYARON
A LO LARGO DE LA INVESTIGACIÓN

INDICE

I	INTRODUCCION	1
II	HIPÓTESIS	2
III	OBJETIVOS	3
	3.1 General	3
	3.2 Específicos	3
IV	REVISION DE LITERATURA	4
	4.1 Definición	4
	4.2 Etiología	4
	4.3 Transmisión	4
	4.4 Patogenia	5
	4.5 Sintomatología	5
	4.6 Lesiones	6
	4.7 Diagnóstico diferencial	7
	4.8 Diagnóstico	7
	4.9 Prueba de inmunodifusión	8
	4.10 Tratamiento	9
	4.11 Prevención	10
	4.12 Características de tres especies de <i>Aspergillus</i>	11
	4.13 Descripción morfológica de las especies muestreadas	12
	4.13.1 Loro frente blanca	12
	4.13.2 Loro cachetes amarillos	12
	4.13.3 Loro cabeza azul	12
	4.13.4 Cotorra cabeza blanca	13
	4.13.5 Guacamaya roja	13

V	MATERIALES Y METODOS	14
5.1	Materiales	14
5.1.1	Recursos humanos	14
5.1.2	Material biológico	14
5.1.3	Material de laboratorio	14
5.1.4	Material de campo	15
5.2	Métodos	16
5.2.1	Psitácidos sujetos a muestreo	16
5.2.2	Captura de los individuos	16
5.2.3	Toma y transporte de las muestras	16
5.2.4	Análisis de la muestra	16
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	18
VII.	CONCLUSIONES	19
VIII.	RECOMENDACIONES	20
IX.	RESUMEN	21
X.	BIBLIOGRAFÍA	23
XI.	ANEXOS	26

I. INTRODUCCIÓN

Los psitácidos, como muchas especies son sometidos a comercio ilegal, transportados dentro de contenedores contaminados y sometidos a condiciones de hacinamiento, terminando en la muerte de la mayoría de los ejemplares capturados. Los que sobreviven suelen presentar problemas relacionados con la inmunosupresión que les provoca el estrés de la captura y transporte, siendo las enfermedades del tracto respiratorio una de las principales causas de muerte en los pichones de psitácidos.

La aspergilosis es una de las micosis que afecta el tracto respiratorio principalmente y se diagnostica al observar las lesiones durante la necropsia o por medio del equipo de laboratorio como endoscopio, medio de cultivo para hongos y coloraciones para citología.

La prueba de inmunodifusión en agar es un método de ayuda diagnóstica de esta patología. La muestra necesaria para esta prueba se toma en el animal in vivo sin causarle daño alguno. Su uso puede no solamente identificar ejemplares infectados, sino también a aquellos previamente expuestos a esporas de hongo.

Debido a la facilidad con que se toman las muestras y que son estables por mucho tiempo, es una prueba aplicable en regiones remotas en las que no se cuenta con un laboratorio a corta distancia.

El presente trabajo pretende ayudar al diagnóstico de aspergilosis y determinar el estado de la misma en el Centro de Rescate y Conservación de Animales Silvestres (ARCAS).

II. HIPOTESIS

La presencia de anticuerpos contra Aspergilosis sp. no depende de la especie de psitácido muestreada.

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Contribuir al diagnóstico de *Aspergillus sp.* mediante la utilización de una prueba rápida en el animal in vivo.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el número de psitácidos reactores positivos a la prueba de inmunodifusión en agar gel.
- Determinar si la presencia de anticuerpos contra *Aspergillus sp.* depende de la especie de psitácido.

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1 DEFINICION

Denominamos aspergilosis a los distintos síndromes clínicos producidos por esporas del hongo del género *Aspergillus*. El agente causal comúnmente aislado es *Aspergillus fumigatus*. (Carter 1973 y 1985, Christensen 1964, Fowler 1986, Olglesbee 1997)

El género *Aspergillus* fue descrito por primera vez en 1729 por *P. A. Micheli*, quien comprobó que la cabeza conidial de este hongo se parecía a un "aspergillum" (instrumento utilizado para dispersar agua bendita). *Aspergillus* es un hongo filamentoso hialino ubicuo, productor de enfermedades de distribución mundial. (Carpenter 1997, Carter 1985)

Las aspergilosis es una infección que afecta el tracto respiratorio, al igual que otras enfermedades respiratorias, es difícil de diagnosticar en vivo, porque no se manifiesta claramente a través de la sintomatología. (Carpenter 1997, Carter 1973 y 1985, Olglesbee1997)

4.2 ETIOLOGIA

Se conocen varias especies de *Aspergillus*: *Aspergillus fumigatus* , *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *A. nidulans*, *A. glaucus*, *A. clavatus*, *A. cervinus*, *A. candidus*, *A. flavipes* y *A. ustus*. (Carter 1973 y 1985)

Esta clasificación se basa en las siguientes características morfológicas del hongo: tamaño y forma de las cabezas conidiales, morfología de los conidióforos, fiálides y métulas, y en la presencia de células de Hülle y de esclerocios. (Carter 1973 y 1985, Soltys 1963)

4.3 TRANSMISIÓN

Las esporas de *Aspergillus* son inhaladas (aerosol) o ingeridas con los alimentos. Estas se dispersan a través del viento a grandes distancias. (Carpenter 1997, Clubb 1997, Cuevas 2001, Fowler 1986, Olglesbee1997)

Esta enfermedad también puede contagiarse a través de las máquinas incubadoras, de aquí el nombre de neumonía de las incubadoras. (Clubb 1997, Olsen 1997)

En la transmisión de esta enfermedad es más importante el ambiente que el contagio con un animal enfermo.

Los factores que influyen en la aparición de esta enfermedad son:

- Abuso de antibióticos
- Alta humedad
- Alta temperatura
- Condiciones de aerobiosis
- Semillas enmohecidas, envejecidas o pulverulentas
- Infecciones primarias de origen bacteriano o vírico
- Falta de higiene
- Estrés
- Inmunodepresión
- Edad
- Carencias nutricionales (Cuevas 2001, Olglesbee 1997)

4.4 PATOGENIA

La vía de entrada es sobre todo la respiratoria por la inhalación de esporas del hongo, aunque también se puede desarrollar la enfermedad por la vía digestiva al ingerir alimentos contaminados por el hongo. (Christensen 1964, Clubb 1997, Cuevas 2001)

Es considerada una enfermedad oportunista, al disminuir las defensas del ave, ya sea por deficiencias nutricionales o por un estrés provocado por la captura, también puede predisponer el tratamiento con antibióticos en enfermedades crónicas. (Cuevas 2001, Olglesbee 1997)

El organismo penetra en el tejido respiratorio se reproduce por una simple división tubular de las hifas formando así el micelio. La invasión en el tejido provoca que los heterófilos, linfocitos y monocitos se infiltren en la lesión. (Cuevas 2001, Deem 1999)

Entre los factores de patogenicidad se encuentran:

- El pequeño tamaño de sus conidias que permiten ser aspiradas.
- La capacidad de crecer a 39°C.
- La capacidad de adhesión a superficies epiteliales y endoteliales.
- Producción de productos extracelulares tóxicos. (Cuevas 2001)

4.5 SINTOMATOLOGÍA

Varia de especie a especie, en aves nocturnas es raro que se presente la enfermedad no siendo el caso de las aves diurnas. (Olglesbee 1997)

Pueden presentar un curso agudo o crónico. Las aves pueden vivir semanas y hasta meses con estado de salud aparente y sólo cuando el curso se ha tornado grave por estrés de cualquier índole aparecen los signos y por lo común la muerte. (Christensen 1964, Cuevas 2001, Olglesbee 1997)

Los signos clínicos varían de acuerdo a la localización de la infección. Pierden el apetito por consiguiente pérdida de peso, la anorexia es producida por disfagia, pues la mucosa bucal y faríngea se ven afectadas. En aves de cetrería al ejercitarlas se incrementa la respiración en frecuencia y profundidad. (Deem 1999)

Los síntomas de esta enfermedad son:

- Dificultad respiratoria (disnea)
- Recuperación prolongada de la función respiratoria luego de una captura o vuelo
- Estertores
- Plumaje encrespado
- Adelgazamiento
- Modificaciones en el canto (volumen, tono) o pérdida del mismo
- Diarrea
- Letargia
- Aumento en el consumo de agua
- Retraso del crecimiento
- Hepatomegalia
- Biliverdinuria
- Problemas nerviosos, parálisis y convulsiones (Cuevas 2001, Hillyer 1997, Olglesbee 1997)

4.6 LESIONES

Se observan lesiones exudativas sobre mucosa respiratoria (tráquea, siringe, bronquios, sacos aéreos). (Christensen 1964, Cuevas 2001, Hillyer 1997, Olglesbee 1997)

Pueden formarse nódulos necróticos en los pulmones y sacos aéreos, así como en la superficie pleural, debido a la producción de las hifas del hongo. Puede haber consolidación y oclusión de los sacos aéreos y los espacios neumáticos de

los huesos, debido a un desarrollo micelial produciéndose una violenta respuesta con exudado fibrinopurulento en las paredes de los sacos. Los espacios aéreos de los huesos neumáticos se llenan de una sustancia caseosa similar a la que se localiza sobre los sacos. (Christensen 1964, Cuevas 2001, Hillyer 1997, Olglesbee 1997, Sánchez 1999)

En los casos crónicos se observan también lesiones en riñones, hígado y cerebro, así como en los vasos arteriales, causando arteritis. En estos casos la evidencia de que se trate de una enfermedad respiratoria es mínima de ahí la dificultad para su diagnóstico. (Christensen 1964, Cuevas 2001, Hillyer 1997, Olglesbee 1997)

4.7 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Como el diagnóstico en el animal es difícil, en las aves que se sospecha de la enfermedad, se podría hacer un diagnóstico presuntivo identificando a las esporas de estos hongos del esputo obtenido del exudado oral o traqueal. Hay que tomar en cuenta que se puede confundir con neumonías bacterianas, vírales o deficiencias de vitaminas A y B1. (Hillyer 1997, Olglesbee 1997)

4.8 DIAGNOSTICO

El diagnóstico antemortem es difícil de efectuar, particularmente en casos crónicos. Los signos son casi siempre no específicos y los micelios del hongo se encuentran dentro de los tejidos por lo que rara vez se observan en exudados y fluidos corporales.

La historia nos puede revelar la presencia de factores inmunosupresores, pérdida de peso, cambio de voz o intolerancia al ejercicio. Se debe de sospechar de aspergilosis cuando un animal muy débil no responde al tratamiento con antibióticos. Una severa leucosis de 20,000 hasta 100,000 de células blancas por microlitro se presenta usualmente en casos de aspergilosis. El conteo diferencial puede revelar una heterofilia hacia la izquierda, monocitosis y linfopenia. Si la presentación es crónica puede presentarse anemia no regenerativa e incrementarse la proteína plasmática. El incremento de aspartato aminotransferasa y ácidos biliares puede verse en caso de un daño hepático. (Deem 1999, Olglesbee 1997)

La endoscopia es un método invaluable en el diagnóstico de aspergilosis. La endoscopia traqueal se puede realizar administrando anestesia inhalada en el saco aéreo abdominal o torácico. Una descarga blanca y gruesa o placas se pueden observar en el lumen traqueal de la cual se debe tomar una muestra de

ella para un examen citológico y cultivo. La endoscopia en los sacos aéreos abdominales puede revelar una opacidad o la presencia de placas amarillas o blancas. Estas placas pueden estar cubiertas de un pigmento verde-gris del hongo. Deben tomarse muestras para cultivo y citología.

Los cambios radiográficos pueden ser no visibles en casos tempranos, pero conforme la enfermedad avanza se puede observar pérdida de definición de los sacos aéreos, densidades focales en los pulmones o en sacos aéreos.

Las pruebas séricas como inmunodifusión en agar gel, detectan anticuerpos contra *Aspergillus* sp. por lo que es una ayuda diagnóstica. (Hillyer 1997, Olglesbee 1997, Deem 1999)

El diagnóstico definitivo se basa en la identificación de organismo por medio de citología o histopatología de las lesiones y por medio de cultivo. Debe tomarse en cuenta que el aislamiento de especies de *Aspergillus* en un cultivo no es un diagnóstico definitivo debido a que es un organismo muy común de contaminación. (Carpenter 1997, Cuevas 2001, Deem 1999, Olglesbee 1997, Soltys 1963,)

El organismo se puede colorear con hematoxilina–eosina, ácido de Schiff y tinción de Grocotts. El hongo crece a temperatura ambiente en agar dextrosa Sabouraud y agar sangre. Las colonias blancas de *A. fumigatus* cambian a verde luego de la esporulación. Una identificación microscópica se puede obtener tiñendo las colonias con azul de lactofenol o azul de metileno. (Cuevas 2001, Olglesbee 1997)

4.9 Prueba de Inmunodifusión

Las técnicas de inmunodifusión son utilizadas en la medicina aviar para demostrar y analizar reacciones antígeno-anticuerpo. Estas técnicas permiten visualizar los complejos o precipitaciones formadas al unirse 2 reactivos mientras se difunden en un medio semisólido como el agar. (Manual practicas de avicultura 1997, Koneman 1992, Pérez 1999)

La inmunodifusión en gel se define como una reacción de precipitación en el medio semi-sólido, en el cual el antígeno y el anticuerpo difunden uno hacia el otro formando bandas de precipitación visibles. (Manual practicas de avicultura 1997, Koneman 1992)

Las técnicas de difusión en gel pueden clasificarse en simples y dobles. En la difusión simple sólo un reactante difunde mientras que en la doble ambos reactivos difunden en el medio. (Manual practicas de avicultura 1997, Pérez 1999)

En este tipo de reacciones intervienen propiedades físicas e inmunoquímicas :

- La concentración de las moléculas; por ejemplo la inmunodifusión doble, al tener pesos y concentraciones moleculares similares la precipitación tendrá una forma recta equidistante al pozo.
- La temperatura; ya que una temperatura elevada acelera la difusión.
- El tamaño; las moléculas pequeñas difunden más rápido que las grandes, es decir, la velocidad de difusión es inversamente proporcional al peso molecular.
- La forma molecular; las redondas se mueven más rápido que las de otras formas.
- La viscosidad del medio; la velocidad de difusión de las moléculas decrece al aumentar la viscosidad del medio. (Manual practicas de avicultura 1997)

La difusión del antígeno puede alterarse además por adsorción o reacción con el medio. La estructura del medio influye sobre el máximo tamaño de la partícula que puede difundir a través de él. Usando concentraciones bajas de agar, se obtienen poros grandes que permiten la difusión de moléculas de gran tamaño en tanto que las concentraciones altas proporcionan poros pequeños que restringen el movimiento de las moléculas grandes. (Manual practicas de avicultura 1997)

La presencia de más de una banda de precipitación en la prueba de inmunodifusión en gel, significa la existencia de varios sistemas antígeno-anticuerpo que intervienen en la prueba. (Manual practicas de avicultura 1997, Pérez 1999)

La prueba de inmunodifusión doble permite identificar fácilmente sistemas antígeno-anticuerpo múltiples, y pueden usarse también para hacer una estimación cualitativa de la pureza del antígeno o del anticuerpo. La principal desventaja de esta prueba es su baja sensibilidad. (Manual practicas de avicultura 1997, Koneman 1992, Pérez 1999)

4.10 TRATAMIENTO

Cuando la colonización de hongo es extensiva el pronóstico es malo. El mejor pronóstico es cuando las lesiones granulomatosas se desbridan pudiendo aplicar tanto un tratamiento tópico como sistémico. Una administración tópica puede realizarse mediante nebulizaciones, lavado nasal y en sacos aéreos o por irrigación quirúrgica en la cavidad abdominal.

Los fármacos utilizados usualmente son anfotericina B, flusitocina, ketoconazol e intraconazol.

La anfotericina B se administra intravenoso en dosis de 1.5 mg/kg cada 12 horas por 3-5 días. Se puede diluir con 0.9% de solución salina y administrarla intra traqueal en dosis de 1 mg/kg cada 8-12 horas o en nebulización por 15 minutos cada 12 horas.

La flucitocina se administra oralmente en dosis de 20-60 mg/kg cada 12 horas. Es fungistático por lo que se debe de administrar por períodos largos hasta 6 meses.

Alcanza buena concentración en el SNC. Se recomienda hacer monitoreos de células sanguíneas ya que es tóxica a la médula ósea.

Ketoconazol se administra en dosis de 20-30 mg/kg cada 12 horas por 2-6 semanas. Intraconazol se administra en dosis de 5-10 mg/kg cada 12 horas. (Oglesbee 1997, Sánchez 1999)

En casos severos se recomienda administrar anfotericina B e intraconazol. Debe darse terapia de soporte como fluidoterapia y alimentación forzada. La higiene del ambiente es muy importante para que el tratamiento tenga éxito. (Cuevas 2001, Deem 1999, Oglesbee 1997)

4.11 PREVENCIÓN

Por ser la aspergilosis una enfermedad oportunista, debe de reducirse todos los factores que causen inmunosupresión como son el estrés, malnutrición y enfermedades crónicas. Las aves deben mantenerse en áreas ventiladas, la cama debe cambiarse cada día y las incubadoras deben de mantenerse libres de contaminación. En caso que esté bajo tratamiento con antibióticos o Corticosteroides se recomienda administrar flucitocina o intraconazol como tratamiento profiláctico. (Cuevas 2001, Oglesbee 1997, Olsen 1997)

4.12 Características de tres especies de *Aspergillus*

Especie	Morfología de las colonias	Características microscópicas
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Las colonias maduras tienen un margen preciso, son verdes, verde azulado o marrón verdoso. La superficie tiene una apariencia empolvada o granular. Por lo general se observa un manto blanco en el borde de la zona de crecimiento.	Las hifas son hialinas y con tabiques netos. Los conidióforos son largos y terminan en una vesícula grande en forma de clava. Cadenas de conidios esféricos, de 2u a 3u nacen de una hilera única de esterigmas que son producidos sólo de la mitad superior de la superficie de la vesícula.
<i>Aspergillus niger</i>	Las colonias están cubiertas de un micelio aéreo blanco veloso. Al madurar la colonia se observa un efecto de sal y pimienta con la superficie con esporas negras. El reverso permanece de color café claro.	Las hifas son hialinas y con tabiques netos. Los conidióforos son largos y habitualmente no se observan las vesículas porque están cubiertas por una bola gruesa de esporas que surgen de toda la superficie. Las esporas son esféricas de 2u a 3u de color negro.
<i>Aspergillus flavus</i>	Las colonias tienen margen neto, están cubiertas por un micelio	Esporas esféricas de 2u a 3u nacen en cadenas cortas de toda la

	aéreo veloso bien desarrollado y cuando maduran tienen un color amarillo a marrón amarillento.	superficie de la vesícula. Las vesículas son esféricas y originan una doble hilera de esterigmas de los cuales nacen las esporas. Las hifas son hialinas y claramente tabicadas.
--	--	--

(Koneman 1992)

4.13 Descripción morfológica de las especies muestreadas

4.13.1 Loro frente blanca (*Amazona albifrons*)

Mide 10 pulgadas y pesa 215 gramos. Su frente blanca se extiende hasta la corona azul fuerte, tiene lorum rojo y un color rojo brillante a nivel de las alulas (marca que ostentan los machos). El resto de su cuerpo (cabeza, cuello, partes inferiores y superiores) son de color verde brillante con tinte amarillo, pero las alas primarias son azules. Tiene pico amarillo, la cara amarillo pálido, ojos amarillo claro, piel gris y patas amarillo verdoso. (Smithe 1986)

4.13.2 Loro cachetes amarillos (*Amazona autumnalis autumnalis*)

Mide 12-13 pulgadas y pesa 300-400 gramos. El área rojo brillante del forum se extiende sobre la frente. Los carillos son amarillo cromo y tienen una marca muy conspicua (en los pichones es verde). La corona es lila y las partes superiores son verde claro y las inferiores son amarillo verdusco. Las plumas de las alas son azules con manchas rojas secundarias. La parte superior del pico es amarilla y la inferior negra. Los ojos son amarillo naranja rodeados de piel desnuda amarillenta y las patas son grises. Anidan en agujeros de los árboles. (Smithe 1986)

4.13.3 Loro cabeza azul (*Amazona farinosa guatemalae*)

Pesa aproximadamente 600 gramos. El plumaje es verde opaco, más claro y de tonalidades más fuertes en los carillos y las partes inferiores. La corona y la nuca son azul pálido; las plumas primarias de las alas son azules. (Smithe 1986)

4.13.4 Cotorra cabeza blanca (*Pionus senilis*)

Mide 9 pulgadas y pesa 200 gramos. La cabeza, el pecho y el cuello son de color azul fuerte, haciendo contraste con la frente, corona y barbilla blancas. Tiene las alas verde oscuro, las plumas de vuelo azul y las cobertoras cafés. Las plumas de la rabadilla son de color verde y las plumas exteriores de la cola son azules. El pico es amarillo verdoso y las patas son de color naranja. Los ojos son de color café rodeados de piel desnuda de color naranja. (Smithe 1986)

4.13.5 Guacamaya roja (*Ara macao*)

Mide 36 pulgadas y pesa 1150 gramos. Solo un escaso número habita en la selva, particularmente en áreas protegidas. Anidan en agujeros de los árboles. La larga cola de casi 20 pulgadas de largo, color rojo brillante, representa casi las dos terceras partes de su tamaño. Son de colorido muy brillante, en tonos de rojo, escarlata, amarillo fuerte y azul. La piel desnuda de la cara y la parte superior del pico son blanco-rosado. El pico inferior es negro, las patas son gris oscuro y los ojos son amarillo claro. (Smithe 1986)

V. MATERIALES Y METODOS

Área de estudio

Realicé la investigación en el Centro de Rescate y Conservación de Animales Silvestres (ARCAS).

El área de estudio corresponde al bosque húmedo subtropical cálido y posee las siguientes características: precipitación entre 1160 y 2000 mts., biotemperatura de 22 a 27°C y una altitud entre 0 y 300 mts. sobre el nivel de mar. (CRUZ DE LA 1982)

Descripción de los recintos

Las guacamayas se encontraban dentro de un recinto de vuelo de 5x4x3 metros. Los psitácidos restantes se encontraban dentro del recinto de investigación en jaulas tipo Nogo (alambre de acero, calibre 14 con agujero de 1 pulgada).

En número de aves por jaula depende de la especie por ejemplo *Amazona autumnalis* es de 8, *Amazona albifrons* y *Pionus senilis* es de 10 y *Amazona farinosa* es de 6.

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos humanos

Estudiante investigador
3 Asesores Médicos Veterinarios
Personal administrativo ARCAS, Petén
Guarda recursos de ARCAS, Petén

5.1.2 Material biológico

100 sueros sanguíneos de aves psitácidas
1 ml de antígeno de *Aspergillus sp.*
1 ml de suero control positivo de *Aspergillus sp.*

5.1.3 Material de laboratorio

0.45 gramos agarosa 0.9%
10 gramos de glicina 7.5%
50 ml solución salina fosfatada bufferada (PBS) 8.5%
3 placas de petri descartables
1 micropipeta unicanal de 50 μ l
100 puntas de pipetas
1 lámpara de luz puntiforme
100 tiras de papel filtro
1 tijera
1 pinza
2 jeringas de tuberculina
1 ml agua destilada
3 hojas de papel absorbente

5.1.4 Material de campo

2 jaulas para transportar perros
4 guantes de cuero
2 redes
500ml de agua
1 lb de algodón
1 libreta
1 marcador
1 lancha (propiedad de ARCAS)
100 tiras de papel filtro
1 corta uñas de perro
1 vial de hemostático hecho a base de ácido tánico y alumbre (Quick stop)
2 servilletas de papel
2 sobres de papel

5.2 METODOS

5.2.1 Psitácidos sujetos a muestreo serológico

Realicé el muestreo en cinco especies de psitácidos: 37 individuos *Amazona autumnalis*, 20 individuos *Amazona albifrons*, 8 individuos *Amazona farinosa*, 18 individuos *Ara macao*, 17 individuos *Pionus senilis*.

5.2.2 Captura de los individuos

Capturé y removí a los individuos de las jaulas comunitarias en las primeras horas de la mañana utilizando redes de mano. Fuera de la jaula un guarda recursos sujetó la cabeza (los dedos pulgar y medio sobre los carillos y el dedo índice en la cabeza) del individuo con la mano izquierda y las alas con la mano derecha, mientras se tomaba la muestra.

5.2.3 Toma y transporte de la muestra sanguínea

Expuse la pata derecha y limpié la uña de la segunda falange con un algodón humedecido con alcohol, luego corté la uña hasta el nivel vascular utilizando un corta uñas para perro. Dejé que la sangre fluyera libremente hasta humedecer una tira de papel filtro ya identificada. Con el hemostático Quick stop®, Four Paws aceleré la coagulación. Coloque las tiras de papel filtro ya humedecidas sobre una servilleta de papel dejando secar al ambiente y las transporté al laboratorio de

Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria dentro de un sobre de papel.

5.3.4 Análisis de la muestra en el laboratorio

Hidraté las tiras de papel filtro impregnadas de sangre con 200 µl de solución PBS por 24 horas en placas con fondo en U. Procedí a realizar la prueba de Inmunodifusión en agar gel luego que tomé 50 µl de cada una de las muestras. Utilizé 3 placas de petri con agarosa al 0.9% las cuales perforé con una roseta de 7 fosos.

Coloque 50 µl de antígeno para inmunodifusión en el foso central, en un foso periférico 50 µl de suero control positivo y en los 5 fosos periféricos restantes 50 µl de los sueros problema utilizando una pipeta unicanal. Cubrí las placas con su tapadera y las dejé reposar por 5 minutos, luego las coloque dentro de una cámara húmeda a una temperatura de 20-22 °C. Realicé la primera lectura con una lámpara de luz puntiforme a las 24 horas y la segunda a las 72 horas.

Una reacción positiva muestra una banda de precipitación entre el suero y el antígeno.

¡Error!

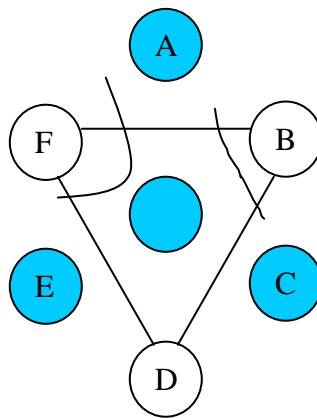


Diagrama de la prueba con ejemplos de líneas de formación no específicas (fosos B y F). Estas reacciones no son específicas para IA y no se deben de tomar en cuenta. (PRUEBA DE Inmunodifusión en agar gel para detección de anticuerpos sericos para virus tipo A de influenza. 1999)



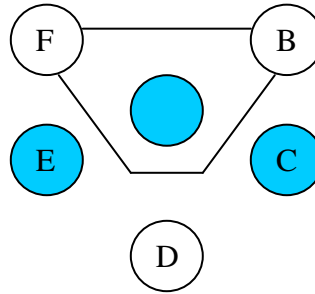


Diagrama de la prueba con el antígeno de IA colocado en el foso central. Los sueros controles positivos se encuentran en los fosos A, C, y E; el suero negativo en el foso B; el suero problema en el foso D; y en el foso F un suero problema débil positivo. (PRUEBA DE Inmunodifusión en agar gel para detección de anticuerpos sericos para virus tipo A de influenza. 1999.)

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

CUADRO # 1

ESPECIES	POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
<i>Ara macao</i>	0	18	18
<i>Amazona autumnalis</i>	4	33	37
<i>Amazona farinosa</i>	0	8	8
<i>Amazona albifrons</i>	0	20	20
<i>Pionus senilis</i>	1	16	17
Total	5	95	100

El cuadro 1 muestra el resumen de los resultados obtenidos. Los sueros positivos mostraron una banda de precipitación similar al control positivo y los sueros negativos no mostraron ninguna banda de precipitación. No hay dependencia entre la presencia de anticuerpos y la especie de psitácido. ($\chi^2 = 6.7522$, G.L= 4, $P > 0.05$.)

Speer (2,003) hace referencia a la existencia de varios factores a considerar en que afectan la detección de anticuerpos como la baja sensibilidad de la prueba de inmunodifusión en agar gel, ya que esta suele no detectar los anticuerpos en

las etapas tempranas de aspergilosis. Los animales muestreados pueden estar padeciendo la enfermedad o haber sido expuestos a esporas, pero su respuesta inmunológica es muy baja lo que perjudica la detección de anticuerpos en métodos serológicos. Todo esto pudo contribuir a la baja incidencia en el presente estudio.

Las aves decomisadas y llevadas al Centro de Rescate y Conservación de Animales Silvestres son sometidas a ambiente contaminado y estrés, Phalen (2,003) menciona el ambiente y estrés como factores determinantes en la prevalencia de aspergilosis.

Se recomienda la inclusión de la historia clínica y métodos de diagnóstico como radiografías, endoscopia, hematología, cultivo y citología para un diagnóstico definitivo. (Olglesbee 1997, Speer 2003)

VII. CONCLUSIONES

- 1) La prueba de inmunodifusión en agar gel es una prueba rápida que tiene la ventaja de utilizarse en el animal in vivo.
- 2) Las infecciones por *Aspergillus* sp. pueden estar presentes en aviarios de psitácidos sin importar la especie.
- 3) Los resultados positivos indican que las aves han sido expuestas a esporas de *Aspergillus* sp. sin necesariamente estar padeciendo la enfermedad clínicamente.
- 4) Para un diagnóstico definitivo de aspergilosis es necesario complementar con otros métodos de diagnóstico.

- 5) El estrés es un factor predisponente en la presencia de aspergilosis.

VIII. RECOMENDACIONES

- 1) Continuar con otros estudios en otras especies de aves para contribuir a la epidemiología de la aspergilosis.
- 2) Realizar rutinariamente la prueba de inmunodifusión en agar gel para *Aspergillus sp.* en aves decomisadas y de esta forma ver el porcentaje de aves que se encuentran seropositivas.
- 3) Debido a la sintomatología similar que presentan varias patologías del tracto respiratorio se recomienda utilizar métodos complementarios de diagnóstico y no únicamente inmunodifusión en agar gel.
- 4) Se debe de proporcionar en todos los aviarios condiciones apropiadas de ventilación, sanidad, nutrición y albergue, para evitar que las aves puedan

entrar en contacto con esporas de *Aspergillus sp.*, que va en detrimento de la salud de las aves.

IX. RESUMEN

El presente estudio tuvo como fin determinar si la presencia de anticuerpos contra *Aspergillus sp.* depende de la especie de psitácido al igual que el número de reactores positivos a la prueba de inmunodifusión en agar gel.

Utilicé 100 sueros sanguíneos de 5 especies distintas de psitácidos. Corrí la prueba de inmunodifusión en agar gel para aspergilosis en el laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Los resultados obtenidos indican que la presencia de aspergilosis es independiente de la especie de psitácido, siendo el número de reactores positivos de 5. ($\chi^2 = 6.7522$, G.L= 4, $P>0.05$.)

Concluyo que las infecciones por *Aspergillus sp.* pueden estar presentes en aviarios de psitácidos sin importar la especie y que el ambiente es un factor predisponente en la presencia de aspergilosis.

Recomiendo realizar la prueba de inmunodifusión en agar gel para aspergilosis en toda ave que ingrese a ARCAS y por ser la prueba de inmunodifusión en agar gel una prueba de baja sensibilidad es necesario que se utilicen métodos complementarios de diagnóstico.

ABSTRACT

The present study was conducted to determinate whether the presence of antibodies against *Aspergillus sp.* depended on the psitacid species and the number of positive reactors to the AGID test.

100 serums of five different psitacid species were obtained and tested by AGID aspergillus in the Avian Pathology Laboratory of the Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia of the San Carlos University of Guatemala.

The results indicate 5 positive serums and show that the presence of aspegillus is independet of the psitacid species. ($\chi^2 = 6.7522$, D.F= 4, $P>0.05$.)

As a conclusion *Aspergillus sp.* infections showed to be present in the tested psitacid aviary independently of species and the stress factor being predisposant to the presence of aspergilosis.

As a recommendation AGID test for aspergillus should be run on every bird that is being brought to ARCAS. Being AGID a low sensibility test it is necessary to use complementary diagnosis methods.

X. BIBLIOGRAFIA

CARPENTER, J.W.; GENTZ, E.J. 1997. Zoonotic Diseases of Avian Origin. EE.UU., W.B. Saunders Company. p. 360.

CARTER, G. R. 1973. Procedimientos de diagnóstico en bacteriología y Micología veterinaria. Trad. por José María Tarazona Vilas. Zaragoza. España, Acribia. p. 189-190.

_____. 1985. Bacteriología y micología veterinarias. Trad. por Ricardo Flores Castro. México, El Manual Moderno. p. 302-303, 324-325.

CHRISTENSEN, C. M. 1964. Los hongos y el hombre. Trad. por Carlos Gerhard Ottenddaelder. México, Interamericana. p. 26, 29, 151.

CLUBB, S.L. 1997. Psittacine Pediatric husbandry and Medicine. EE.UU., W.B.Saunders Company. p. 94.

CRUZ S., JR. DE LA 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, Ministerio de agricultura, ganadería y alimentación. 42 p.

- CUEVAS, R. 2001. Enfermedades micóticas. p.1-5. Tomado de Internet:
http: www.revistapajaros.org/articulos/patolog/micosis1.htm
- DEEM, S.L. 1999. Infectious and Parasitic diseases of raptors. Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (EE.UU.) 21(3): 1-4.
- FOWLER, M.E. 1986. Zoo and wild animal medicine. 2 ed. EE.UU., W.B. Saunders Company. p.120.
- HILLYER, E.V. 1997. Clinical Manifestations of Respiratory Disorders. EE.EU., W.B. Saunders Company. p. 401-402.
- KONEMAN, M. D., et al. 1992. Diagnóstico microbiológico. 3 ed. Buenos Aires, Argentina, Médica Panamericana. p.668, 673, 681,690, 692, 713-715, 863-865.
- MANUAL DE prácticas de avicultura. 1999. Departamento de Patología aviar. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 3-5.
- OLGLESBEE, B.L. 1997. Mycotic diseases. EE.UU., W.B. Saunders Company. p. 323-327.
- OLSEN, G.H.; CLUBB, S.L. 1997. Embriology, incubation and hatching. EE.UU., W.B. Saunders Company. p. 66.
- PÉREZ, V. M., et al. 1999. Aplicación de métodos convencionales y modernos en el diagnóstico y la prevención de enfermedades aviares. Puebla, México, Biotecnología Veterinaria de Puebla, S.A. de C. V. p. 11-12.
- PHALEN, D. 2003. Common Bacterial and Fungal Infectious Diseases in Pet Birds. Bayer Exotics Symposium.(EE.UU.) 25(3):43-48.
- PRUEBA DE Inmunodifusión en agar gel para detección de anticuerpos sericos para virus tipo A de influenza. 1999. s.n.t. p. 6.

SANCHEZ, D.C. 1999. Diagnóstico tratamiento de aspergilosis en mascotas exóticas, un reto para el médico veterinario. AMMVEPE. (México.) 10(4): 17-120.

SMITHE, F. 1986. Las aves de Tikal. Trad. por Graciela de la Cerda. Guatemala, Litografía Zadik. p. 376.

SPEER, B. 2003. Diagnostic Test Used to Detect Infectious Organisms in Avian Medicine. Bayer Exotics Symposium. (EE.UU.) 25(3):32-34.

SOKAL.R., ROHLF.F. 1995. Biometry. 3 ed. EE.UU., W.H. Freeman and Company.
p. 103.

SOLTYS, M. A. 1963. Bacteria and fungi pathogenic to man and animals. EE.UU., Williams and Wilkins Company. p. 475-477.

XI. ANEXOS

GRAFICA # 1

Resultados

